



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**

Institutionen för biomedicin och veterinär  
folkhälsvetenskap

# **Tidsförlopp för plasmakoncentrationen av bensylpenicillin efter intramuskulär administration av bensylpenicillin med tillsats av lidokain med adrenalin till häst**

*Judith Grossman*

*Uppsala  
2016*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2016:18*



# Tidsförlopp för plasmakoncentrationen av bensylpenicillin efter intramuskulär administration av bensylpenicillin med tillsats av lidokain med adrenalin till häst

Plasma concentration-time profile for benzylpenicillin following intramuscular administration of benzylpenicillin with addition of lidocaine with adrenaline in horses

*Judith Grossman*

**Handledare:** Lena Olsén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Biträdande handledare:** Carina Ingvast-Larsson, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:** Pia Larsson, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0751

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2016

**Delnummer i serie:** Examensarbete 2016:18

**ISSN:** 1652-8697

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** bensylpenicillin, penicillin G, häst, intramuskulär administration, lidokain, adrenalin, farmakokinetik, PK/PD

**Key words:** benzylpenicillin, penicillin G, horse, intramuscular administration, lidocaine, adrenaline, pharmacokinetics, PK/PD

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



## SAMMANFATTNING

Penicillin är den mest använda antibiotikan inom svensk veterinärmedicin. Det är ett väl beprövat och säkert läkemedel som jämfört med många andra antibiotika har en mer begränsad benägenhet att selektera fram resistenta bakterier. Det är av denna anledning fördelaktigt att använda penicillin framför andra antibiotika i så stor utsträckning som möjligt. För behandling av häst finns idag bensylpenicillin i två typer av beredningar godkända i Sverige: som ett lösligt natriumsalt för intravenös administration och som ett svårlösligt salt med prokain för intramuskulär administration. Den vanligast rapporterade biverkningen, ofta kallad "penicillinchock", av bensylpenicillin är centralnervösa symptom, i de flesta fall efter intramuskulär administration av de prokaininnehållande beredningarna. Dessa reaktioner anses i majoriteten av fallen dock inte bero på penicillinet i sig, utan på toxiska effekter av prokainet. En penicillinberedning för intramuskulär giva utan prokain skulle därför kunna bidra till att minska risken för biverkningar.

Förutom att ge ett långsammare upptag av penicillinet bidrar prokainet med lokalbedövande verkan. Intramuskulära injektioner av det lösliga natriumsaltet av bensylpenicillin är dock smärtsamma. Inom humanmedicinen har en tillsats av lidokain till bensylpenicillinnatrium visat sig vara effektivt för att minska smärtan i samband med injektion.

Åtta hästar gavs intramuskulära injektioner av bensylpenicillin med tillsats av lidokain i fast kombination med adrenalin i dosen 7,5 mg bensylpenicillin/kg två gånger dagligen och penicillinkoncentrationen i plasma analyserades.

Halveringstiden var  $2,6 \pm 1,0$  h och en maximal plasmakoncentration om  $3,4 \pm 0,8$  µg/ml uppnåddes efter  $1,3 \pm 0,9$  h. Andelen av tiden mellan doseringsintervallen då den fria plasmakoncentrationen av bensylpenicillin översteg MIC ( $fT_{>MIC}$ ) var för MIC 30 ng/ml  $124 \pm 42\%$  och för MIC 125 ng/ml  $79 \pm 24\%$  vilket indikerar en god teoretisk effekt mot vanliga penicillinkänsliga bakterier hos häst representerade av betahemolyserande streptokocker och *Staphylococcus aureus*.

För bedömning av beredningens kliniska användbarhet behöver smärteaktioner och lösningens stabilitet studeras. Detta har skett i andra delar av denna studie, men resultaten har ännu ej analyserats. Ingen påtaglig smärta hos hästarna kunde dock ses i samband med injektionerna.

## SUMMARY

Penicillin is the most used antibiotic in Swedish veterinary medicine. It is a well known and safe drug that compared to other antibiotics cause limited development of resistant bacteria. For this reason the use of penicillin should be favored over other antibiotics when possible. In Sweden, two different forms of benzylpenicillin are approved for use in horses: as a sodium salt for intravenous administration and as a procaine salt for intramuscular administration. The most reported adverse effects of benzylpenicillin are central nervous symptoms after intramuscular injection of the procaine containing solutions. These reactions are thought to be a result of procaine toxicity in the majority of the cases. A preparation without procaine could thus be advantageous.

However, intramuscular injection of soluble benzylpenicillin is known to be painful. In addition to creating a slower absorption of the penicillin, the procaine acts as a local anaesthetic. In human medicine, adding lidocaine to benzylpenicillin has proved effective in reduce pain associated with injection.

Eight horses was given intramuscular injections of 7,5 mg/kg benzylpenicillin with addition of lidocaine in combination with adrenaline twice daily, and the plasma concentration of benzylpenicillin was analyzed.

The half-life was  $2,6 \pm 1,0$  h and the peak concentration of penicillin  $3393 \pm 817$  ng/ml was reached after  $1,3 \pm 0,9$  h.  $fT_{>MIC}$  for 30 ng/ml was  $124 \pm 42\%$  and for 125 ng/ml  $79 \pm 24\%$ . The used dosage consequently implies to give adequate effect against common penicillin sensitive bacteria in horses represented by beta hemolytic streptococcus and *Staphylococcus aureus*.

To assess the clinical applicability of this combination of drugs, the result of other parts of this study including pain reactions in the horses and stability of the solution, has to be analyzed. However, no obvious pain reactions associated with the injections could be seen in the horses.

## INNEHÅLL

Inledning.....	1
Syfte.....	1
Litteraturstudie .....	2
Penicillin.....	2
Farmakokinetik .....	2
PK/PD .....	2
Biverkningar .....	3
Alternativ till bensylpenicillinprokain .....	4
Stabilitet för bensylpenicillin.....	5
Lidokain och adrenalin .....	5
Material och metod.....	5
Djur.....	5
Försöksupplägg.....	6
Blodprovstagning.....	7
Analys av penicillinkoncentration .....	7
Farmakokinetiska beräkningar.....	7
Statistisk analys .....	8
Resultat.....	8
Farmakokinetik .....	9
PK/PD .....	10
Diskussion .....	11
Konklusion .....	15
Tack.....	16
Referenser.....	17

## Förkortningar

AUC	Arean under plasmakoncentrationskurvan
$C_{\max}$	Maximal plasmakoncentration
$C_{\min}$	Lägsta plasmakoncentrationen under doseringsintervallet
$fC$	Fri (obunden) plasmakoncentration
$fT_{>MIC}$	Andel av tiden då den fria plasmakoncentrationen överstiger MIC
h	Timmar
i.m.	Intramuskulär
i.v.	Intravenös
MIC	Minsta inhiberande antibiotikakoncentration
pc-na	Bensylpenicillinnatrium
pc-lido	Bensylpenicillinnatrium med lidokain och adrenalin
pc-prok	Bensylpenicillinprokain
PD	Farmakodynamik
PK	Farmakokinetik
PVK	Perifier venkateter
q12h	Dosering två gånger dagligen
q24h	Dosering en gång dagligen
$T_{1/2}$	Halveringstid
$T_{\max}$	Tid från administration till $C_{\max}$



## INLEDNING

Penicillinet upptäcktes av Alexander Fleming 1928, och är än idag den mest använda antibiotikan inom svensk veterinärmedicin (Folkhälsomyndigheten & SVA, 2014). Effekten är god mot många av de patogener som orsakar infektioner hos häst. Betydande selektion för antibiotikaresistens sker i tarmens normalflora och då denna till stor del består av gramnegativa bakterier med naturligt låg känslighet för penicillin är risken för resistensutveckling mindre än för många andra typer av antibiotika. Det finns idag två former av läkemedel med penicillin godkända för systemisk behandling av häst i Sverige: de som består av ett lösligt natriumsalt (pc-na) för intravenös (i.v.) administration och de som består av ett svårslutligt salt med prokain (pc-prok) för intramuskulär (i.m.) administration. Tillsatsen av prokain ger ett långsammare upptag som möjliggör längre doseringsintervall och bidrar samtidigt med smärtlindring i samband med injektionen.

Negativa reaktioner i form av centralnervösa symptom efter administration av penicillin, och då framför allt pc-prok, är en känd och relativt vanligt förekommande biverkning som ofta benämns som ”penicillinchock”. Dessa biverkningar anses dock i majoriteten av fallen bero på en toxisk reaktion mot prokainet (Nielsen *et al.*, 1988; Tjälve, 1997; Olsén *et al.*, 2007). Det vore därför fördelaktigt med en beredningsform utan prokain. Det finns få substanser för antibiotikabehandling av hästar utanför djursjukhus, då läkemedlet behöver kunna administreras av djurägaren. Utöver pc-prok för i.m. injektion finns endast trimetoprim-sulfadiazin för peroral administration, vilket är ett sämre val ur resistenssynpunkt.

Bortsett från biverkningarna är pc-prok ett väl beprövat läkemedel med god effekt. Risken för biverkningar är dock en anledning till att studera alternativa beredningsformer utan prokain för penicillinbehandling av hästar utanför djursjukhus. Pc-na är godkänt för i.m. administration hos andra djurslag (nötkreatur och gris), och vid dosering två gånger per dag ses även hos häst ett gott upptag med tillräckliga plasmakoncentrationer för god klinisk effekt (Olsén *et al.*, 2013). Hästarna uppvisar dock tydliga tecken på smärta efter injektionerna varför detta administrationssätt inte kan rekommenderas. Smärta efter i.m. injektion av bensylpenicillin är ett känt problem även inom humanmedicinen (Harari *et al.*, 1988) och där har en tillsats av lidokain till injektionslösningen visat sig ge god effekt (Amir *et al.*, 1998).

Penicillin har en tidsberoende effekt och behandlingen bör därför inriktas på att bibehålla en tillräckligt hög plasmakoncentration över så stor andel av doseringsintervallet som möjligt. Tillsatsen av adrenalin skulle kunna bidra till detta genom att ge en lokal vasokonstriktion som kan bromsa upptagshastigheten av penicillinet.

## Syfte

Syftet med den större studie detta arbete är en del av är att undersöka om i.m. injektion av natriumbensylpenicillin med tillsats av lidokain med adrenalin två gånger dagligen (q12h) skulle kunna vara ett alternativ vid penicillinbehandling av hästar. Denna del av studien syftar till att utvärdera farmakokinetik (PK) och farmakodynamik (PD) för läkemedelskombinationen genom undersökning av tidsförloppet för plasmakoncentration av bensylpenicillin i relation till MIC-värden för vanliga patogener hos häst.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Penicillin

Bensylpenicillin, eller penicillin G, är den vanligaste typen av penicillin inom svensk veterinärmedicin (Folkhälsomyndigheten & SVA, 2014). Substansen tillhör gruppen betalaktamantibiotika och verkar genom att störa cellväggssyntesen hos bakterier i tillväxt. Effekten är baktericid och tidsberoende. Bensylpenicillin har i regel god effekt mot grampositiva bakterier och anaerobes medan effekten mot gramnegativa bakterier är mer varierande (Giguère, 2013). Bakterier inom gruppen *Enterobacteriaceae* är naturligt okänsliga för penicillin, detta leder till en begränsad effekt på normalfloran i tarmen vid behandling vilket är positivt ur resistenssynpunkt. Bensylpenicillin är förstahandsalternativ för behandling av många infektioner hos häst (Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap, 2013).

### Farmakokinetik

Halveringstiden ( $T_{1/2}$ ) för pc-na är kort, ca 50 minuter efter i.v. administration (Dürr, 1976; Love *et al.*, 1983) och 1,5 - 2 h efter i.m. administration (Love *et al.*, 1983; Olsén *et al.*, 2013). Pc-prok har en betydligt längre halveringstid vid i.m. administration, i de flesta studier runt 10 timmar (Firth *et al.*, 1986; Franklin *et al.*, 1989; Firth *et al.*, 1990; Lindberg, 2009). Det finns även studier som har visat längre halveringstider på upp till 24,7 timmar för pc-prok (Love *et al.*, 1983; Uboh *et al.*, 2000).

Biotillgängligheten för pc-prok varierar något beroende på injektionsplats och är som störst efter injektion i *m. serratus ventralis cervicis* lateralt på halsen (Firth *et al.*, 1986). Detta är den vanligaste platsen för i.m. injektion hos vuxna hästar i Sverige. Utsöndring av penicillin sker via aktiv sekretion i njurarna och koncentrationen i urin blir därmed hög.

### PK/PD

I blodet binds en del av det administrerade läkemedlet till plasmaproteiner och endast den obundna fraktionen kan diffundera ut till vävnaden. Denna andel benämns som den fria plasmakoncentrationen ( $fC$ ) och är ett bra mått för att förutsäga ett antibiotikums koncentration i extracellulär vätska och därmed dess effekt (Mouton *et al.*, 2007). Plasmaproteinbindningsgraden för bensylpenicillin har bestämts till mellan 52 och 63% (Keen, 1965; Dürr, 1976; Firth *et al.*, 1986; Olsén *et al.*, 2013).

För att bestämma ett effektivt doseringsintervall för en antibiotikasubstans behöver hänsyn tas till både farmakokinetiska och farmakodynamiska parametrar. Ett PK/PD-index är ett kvantitativt värde som relaterar en farmakokinetisk parameter till en farmakodynamisk variabel. Det PK/PD-index som speglar *efficacy* för ett tidsberoende antibiotika som penicillin är den andel av tiden mellan doseringsintervallen då den fria plasmakoncentrationen överstiger den lägsta inhiberande koncentrationen (MIC) för den aktuella patogenen, detta skrivs som  $fT_{>MIC}$  och uttrycks i procent (Mouton *et al.*, 2005). Ett annat PK/PD-index är arean under kurvan för plasmakoncentrationen (AUC) i relation till MIC, detta index används framför allt för antibiotika med en koncentrationsberoende effekt.

MIC står för *minimum inhibitory concentration* och beskriver den lägsta koncentration av ett antibiotikum som krävs för att inhibera en viss bakteries tillväxt *in vitro*. I detta arbete valdes

att korrelera plasmakoncentrationerna med MIC-värden för tre i Sverige vanligt förekommande penicillinkänsliga patogener hos häst: *Staphylococcus aureus*, betahemolyserande streptokocker (som representerar bland annat *Streptococcus equi* ssp. *equi* och *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*) och *Actinobacillus equuli*. En sammanställning av MIC-värden för dessa bakterier ses i tabell 1.

Tabell 1. MIC-värden för bensylpenicillin hos vanliga patogener hos häst

Bakterie	MIC (ng/ml)	Källa
<i>Actinobacillus equuli</i>	120 - 1000	Läkemedelsverket, 2015
<i>Staphylococcus aureus</i> <sup>a</sup>	32 - 125	EUCAST, 2011
	≤120	Läkemedelsverket, 2015
	≤30 - 120 <sup>b</sup>	Greko, 2015*
Betahemolyserande streptokocker	≤15	Ensink <i>et al.</i> , 1993
	≤120	Swedres-Svarm, 2014
	≤120	Läkemedelsverket, 2015
	≤30 - 60 <sup>c</sup>	Greko, 2015*

\* Greko, C., Statens veterinärmedicinska anstalt, pers. medd., 2015-11-25. Resultat av antibiotikakänslighetsbestämningar av isolat från diagnostiska undersökningar av häst utförda vid SVA under mars-november 2015, opublicerade uppgifter.

<sup>a</sup> Penicillinasnegativa.

<sup>b</sup> 143 prover, fördelning av andel per MIC (ng/ml): <30 (67%), 60 (29%), 120 (1,4%).

<sup>c</sup> 367 prover, fördelning av andel per MIC (ng/ml): <30 (99,7%), 60 (0,3%).

Åsikterna om hur stor andel av tiden mellan doseringsintervallen MIC behöver överstigas för god effekt varierar, från att  $fT_{>MIC}$  bör ligga mellan 40-80% (Cars, 1997; Burgess, 1999; Toutain *et al.*, 2002) till att det räcker om MIC överskrids under 30-50% av doseringsintervallet (Drusano, 2004; MacGowan, 2011; Martinez *et al.*, 2013; Läkemedelsverket, 2015). För att åstadkomma en längre tid över MIC kan ett läkemedel ges med tätare doseringsintervall och/eller i högre dos, som en kontinuerlig infusion eller i en beredningsform med någon typ av depåeffekt. Administration av antibiotika i för låga doser kan förutom att den kliniska infektionen kvarstår eller återkommer (Powers *et al.*, 1984) även bidra till utveckling av antibiotikaresistens (Washington, 1979; Burgess, 1999). AUC i förhållande till bakteriens MIC (index  $AUC_{0-24}/MIC$ ) har visat sig ha effekt på utvecklingen av resistens framför allt för fluorokinoloner men även för tidsberoende betalaktamantibiotika. När indexet  $AUC_{0-24}/MIC$  översteg 100 sågs signifikant lägre resistensutveckling även för betalaktamer (Thomas *et al.*, 1998).

## Biverkningar

Reaktioner efter i.m. administration av pc-prok står för den största andelen av samtliga biverkningar hos häst som rapporteras i Sverige (Tjälve, 1997). De vanligast förekommande symptomen är oro, ataxi, muskeltremor, takypné, takykardi och kramper, även ett fåtal dödsfall finns rapporterade (Tjälve, 1997; Olsén *et al.*, 2007). Det förekommer även ett mindre antal rapporter om liknande biverkningar efter giva av pc-na i.m. eller i.v. Då det inte finns data för hur stor andel av det penicillin som säljs i Sverige som används till hästar kan den relativa incidensen av biverkningarna inte beräknas.

Penicillin anses i sig vara ett säkert läkemedel med stort terapeutiskt fönster och låg toxicitet. Flera olika mekanismer till biverkningarna har föreslagits, däribland anafylaktiska reaktioner mot penicillin, toxiska effekter av prokain eller penicillin och vaskulära lungembolier (Nielsen *et al.*, 1988). Biverkningarna kan i majoriteten av fallen antas bero på prokaintoxicitet (Nielsen *et al.*, 1988; Chapman *et al.*, 1992; Olsén *et al.*, 2007). Liknande biverkningar har även beskrivits hos katt och hund efter oavsiktligt i.v. administration av bensylpenicillin med prokain (Kaplan *et al.*, 2011).

Prokain är ett lokalanestetikum som verkar via blockering av natriumkanaler. Vid i.v. administration av prokain till hästar ses akuta och dosberoende toxiska reaktioner med centralnervösa symptom (Tobin *et al.*, 1977; Chapman *et al.*, 1992). Prokain hydrolyseras av esteraser i blod och lever till icke toxiska metaboliter i form av paraaminobensoesyra (PABA) och dietylaminöetanol (Tobin *et al.*, 1977). De esteraser som hydrolyserar prokain i blodet har visats vara mindre aktiva hos hästar som drabbats av reaktioner efter prokainpenicillingiva (Olsén *et al.*, 2007). Vid i.m. injektion av pc-prok sker ett långsamt upptag av det lösta saltet och prokainet når i normalfallet inte sådana nivåer i blodet att det orsakar toxicitet. Vid oavsiktlig i.v. administration av hela eller delar av dosen löses saltkomplexet snabbt upp i blodet vilket ger toxiskt höga plasmakoncentrationer av prokain.

### **Alternativ till bensylpenicillinprokain**

#### ***Peroral administration***

Bensylpenicillin lämpar sig av flera skäl inte för peroral administration hos häst. Det inaktiveras i magsäckens sura miljö och har en dålig oral biotillgänglighet som ger låga plasmanivåer (Baggot *et al.*, 1990; Horspool & McKellar, 1995; McKellar & Horspool, 1995; Rang *et al.*, 2012). Efter peroral administration ses också betydligt högre nivåer av penicillin i grovtarmsvätska än efter parenteral administration vilket ger en ökad risk för gastrointestinala biverkningar till följd av störningar av normalfloran (Horspool & McKellar, 1995).

Fenoximetylpencillin, eller penicillin V, är till skillnad från bensylpenicillin syrastabilt och kan därför administreras peroralt (Rang *et al.*, 2012). För att uppnå tillfredställande plasmakoncentrationer hos häst krävs dock höga doser och att hästarna fastas innan givan (Ducharme *et al.*, 1983; Schwark *et al.*, 1983).

#### ***Intravenös administration***

För i.v. administration till häst finns idag ett godkänt läkemedel med pc-na. Eftersom halveringstiden är kort krävs korta doseringsintervall med injektioner 3-4 ggr/dag (Läkemedelsverket, 2015) och då i.v. injektioner endast får utföras av djurhälsopersonal är behandlingen i regel endast aktuell på djursjukhus.

#### ***Intramuskulär administration***

Pc-na i dosen 15 mg/kg i.m. q12h ger fria plasmakoncentrationer över MIC för *S. aureus* (125 ng/ml) och *S. equi ssp. zooepidemicus* (15 ng/ml) under 55% respektive >100% av doseringsintervallet (Olsén *et al.*, 2013). Behandlingen kan dock inte rekommenderas då hästarna visade tydliga smärtreaktioner efter injektionerna (Bremer, 2010).

Även hos människor är i.m. injektioner av lättlösligt bensylpenicillin smärtsamma (Harari *et al.*, 1988). Tillsats av lidokain till injektionslösningar av pc-na (Amir *et al.*, 1998) eller ceftiraxon (Patel *et al.*, 1982) ger minskad smärta vid i.m. injektioner hos människa utan att skillnader i upptag eller elimination kunnat påvisas. För ett humanpreparat med pc-na (Bensylpenicillin Panpharma, FarmaPlus) anges blandning med lidokainlösning som ett alternativ vid beredning för i.m. administration (Läkemedelsindustriföreningen, 2015). Det finns inga publicerade studier av denna läkemedelskombination hos häst.

### **Stabilitet för bensylpenicillin**

Redan vid upptäckten av penicillinet beskrev Fleming (1929) att den nya substansen hade en begränsad stabilitet och förlorade sin effekt efter 10-14 dagars förvaring i rumstemperatur. Han fann också att nedbrytningshastigheten påverkades av lösningens temperatur och pH och att hållbarheten kunde förlängas genom förvaring i en lösning med pH 6,8.

Bensylpenicillin är stabilast i en lösning med pH-värde runt 6 och vid förvaring i låga temperaturer medan det bryts ned mycket snabbt vid pH-värden <4 eller >8 och vid höga temperaturer (Benedict *et al.*, 1944; Kheirulomoom *et al.*, 1999). Penicillinets stabilitet kan även påverkas både positivt och negativt av olika ämnen. En tillsats av magnesium till bensylpenicillin har till exempel visat sig öka stabiliteten (Michnik, 2004).

Det är även viktigt att läkemedel och prover innehållande penicillin hanteras aseptiskt då kontamination med penicillinabildande bakterier kan leda till nedbrytning av penicillinet (Wiese, 1989).

### **Lidokain och adrenalin**

Lidokain är ett lokalanestetiskt preparat som genom att blockera spänningsberoende natriumkanaler i cellmembranet förhindrar depolarisering och vidarebefordring av aktionspotentialen i axon. Adrenalin är bland annat agonist till  $\alpha_1$ -receptorer i den glatta muskulaturen i kärlväggen och har därmed en vasokonstringerande effekt. Tillsats av adrenalin till lokalanestetika ger en minskad blödningstendens och en längre duration av anestesin. (Rang *et al.*, 2012).

Högsta rekommenderade dos vid lokalanestesi anges i produktresumén för Xylocain® adrenalin i Fass vet. till 3 g lidokain för en vuxen häst, denna dos innehåller även 1,5 mg adrenalin (Läkemedelsindustriföreningen, 2014). Vid kontinuerlig i.v. infusion av lidokain kan startdoser i form av en bolus på upp till 1,5 mg/kg ges (Meyer *et al.*, 2001; Waxman *et al.*, 2011).

## **MATERIAL OCH METODER**

### **Djur**

I studien ingick åtta varmblodiga travhästar, sju ston samt en valack, ägda av institutionen för kliniska vetenskaper, SLU. Hästarna var mellan 13 och 23 år gamla och vägde mellan 474 och 599 kg. Studien var godkänd av djurförsöksetiska nämnden i Uppsala (C173/14).

Under försöket hölls hästarna uppstallade i boxar strödda med spån och gick dagtid i hagar utomhus, alternativt motionerades för hand de dagar då täta provtagningar gjordes. Hästarna utfodrades enligt sina ordinarie foderstater med hösilage och kraftfoder. Kontroll av hästarnas kroppstemperatur utfördes dagligen.

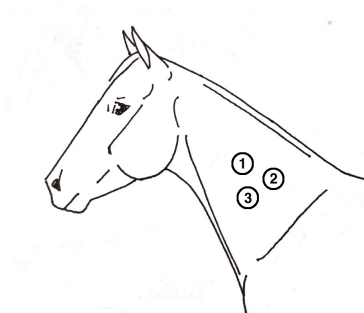
## Försöksupplägg

Den större studie som detta arbete är en del av handlar även om att utvärdera smärtreaktioner efter injektion av pc-na med tillsats av lidokain med adrenalin (pc-lido). Av denna anledning utfördes försöket i form av en *cross-over* studie där varje häst utgjorde sin egen kontroll. Som kontroll i studien av smärtreaktioner gavs pc-prok (Penovet® vet., Boehringer Ingelheim Vetmedica, 300 mg/ml, 21 mg/kg i.m. q24h i 4 dagar). Vid varje försöksomgång injicerades hälften av hästarna med pc-lido och hälften med pc-prok. Efter en *wash-out* period på 8 veckor utfördes den andra delen av försöket med byte av preparat. Proverna för detta arbete togs följaktligen då respektive häst erhöll pc-lido.

Pc-lido bereddes enligt följande schema: 3 gram bensylpenicillin (Bensylpenicillin® Meda, Meda, Solna, Sverige, innehåll: 3 g (5 milj. IE) bensylpenicillinnatrium) löstes i 5 ml sterilt vatten (Sterilt vatten Fresenius Kabi, Fresenius Kabi, Uppsala, Sverige) och 5 ml lidokain med adrenalin (Xylokain® adrenalin, AstraZeneca, Södertälje, Sverige, innehåll 1 ml: lidokainhydroklorid 10 mg, adrenalin 5 µg, hjälpämnen: natriumklorid, natriummetabisulfat, metylparahydroxybensoat (E218), saltsyra/natriumhydroxid, vatten för injektionsvätskor). Beredningen skedde genom aseptisk överföring av vätskorna till flaskorna med bensylpenicillin som sedan skakades till dess att pulvret lösts upp fullständigt. Den färdiga beredningen innehöll bensylpenicillinnatrium 300 mg/ml, lidokain 5 mg/ml samt adrenalin 2,5 µg/ml. Lösningen bereddes i omedelbar anslutning till varje injektionstillfälle.

Pc-lido administrerades i en dos motsvarande 7,5 mg bensylpenicillinnatrium/kg kroppsvikt två gånger dagligen vid sammanlagt sju tillfällen (fyra dagar). Denna dos innehöll även 0,125 mg lidokain/kg och 0,06 µg adrenalin/kg. Den injicerade volymen var 2,5 ml/100 kg kroppsvikt. Injektionerna gjordes med kanyl av storleken 21G, 0,8x40mm (Microlance™ 3, Becton, Dickinson and Company Limited, Drogheda, Co. Louth, Irland).

Alla injektioner gavs intramuskulärt i halsens laterala muskulatur (*m. serratus ventralis cervicis*, *m. splenius*), omväxlande på hästens högra och vänstra sida i olika områden markerade genom klippning av pälsen (figur 1). Aspiration för kontroll av kanylens läge skedde innan injektionen påbörjades. Om blod aspirerades avbröts injektionen och återupptogs med ny kanyl.



Figur 1. Lokalisation av injektionsplatser lateralt på halsen.

En klinisk undersökning avseende svullnad och palpationsömheter i injektionsområdet utfördes en gång dagligen som en del av studien om smärtreaktioner.

## Blodprovstagning

Blodprover för analys av penicillinkoncentration togs innan den första injektionen (0-prov) och sedan var 12:e h direkt innan nästa administration av penicillin. Prover togs även 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 5, 8, 12, 24 respektive 36 h efter den sista injektionen.

Fram till den sista injektionen togs blodproverna med kanyl (0,9x38mm, BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA) från jugularvenen. Inför den sista injektionen anlades en venkateter (PVK, 14G, 130mm, Milacath®, Mila International Inc., Erlanger, USA) aseptiskt i jugularvenen och resterande blodprover togs ur denna. Huden över venen bedövades inför kanylläggningen med Emla® kräm (AstraZeneca, Södertälje, Sverige, innehåll 1 g: lidokain 25 mg, prilokain 25 mg, karbomer, makrogolglycerolhydroxistearat, natriumhydroxid till pH 8,7-9,7, vatten). Samtliga prover togs från jugularvenen på den motsatta sidan från där hästen fått sin senaste penicillininjektion. Blod samlades i eller överfördes aseptiskt till (vid provtagning ur PVK) förkylda hepariniserade vacutainerrör som omedelbart placerades i isvatten för kylning. När blodprover togs från venkateter kasserades ca 10 ml blod innan provet samlades in. Venkatetrarna spolades med steril koksaltlösning (Fresenius Kabi, Uppsala, Sverige, innehåll: natriumklorid 9 mg/ml, vatten för injektionsvätskor, saltsyra, natriumhydroxid) efter varje provtagning.

Blodproverna centrifugerades vid 1500 G i 4°C under 10 minuter. Plasma aspirerades sedan med kylda sprutor och kanyler och överfördes aseptiskt till kylda sterila rör som snarast placerades i -80°C.

## Analys av penicillinkoncentration

Koncentrationen av bensylpenicillin i plasma analyserades genom en validerad metod med *liquid chromatography tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) vid Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA), Uppsala enligt samma metod som beskrivits av Olsén *et al.* (2013). Minsta mätbara koncentration av bensylpenicillin var 6,4 ng/ml.

## Farmakokinetiska beräkningar

För behandling av data och beräkningar användes programmet Microsoft® Excel® (version 12.0).

### $C_{max}$ , $T_{max}$ och $C_{min}$

Den maximala plasmakoncentrationen ( $C_{max}$ ) och tidpunkten för denna ( $T_{max}$ ) uppmättes efter den sista injektionen. Den lägsta plasmakoncentrationen under varje doseringsintervall ( $C_{min}$ ) uppmättes 12 h efter varje injektion. I de fall tidpunkten för provtagningen avvikit från 12 timmar efter den föregående injektionen har  $C_{min}$  korrigerats enligt ekvation 3.

$$C_{min} = C_{prov} * 0,5^{\left(\frac{\Delta t}{T_{1/2}}\right)}$$

Ekvation 3.  $C_{prov}$  = uppmätt värde,  $\Delta t$  = differens mellan tid vid provtagning och 12 timmar,  
 $T_{1/2}$  = halveringstid för individen.

## $T_{1/2}$

Plasmakoncentrationen av bensylpenicillin efter den sista injektionen plottades mot tiden i ett log-lin diagram. En exponentiell funktion (ekvation 1) baserad på prover från och med 2 h efter injektion (häst 1, 2, 3, 4, 7 och 8), 3 h efter injektion (häst 5) respektive 1 h efter injektion (häst 6) skapades. Funktionen baserades på mellan 3 och 8 mätpunkter. Hastighetskonstanten ( $\beta$ ) ur ekvation 1 användes för att beräkna  $T_{1/2}$  enligt ekvation 2.

$$y = a * e^{\beta x}$$

Ekvation 1.  $y$  = fri konc. vid tiden  $x$ ,  $a$  = teoretisk konc vid tiden 0,  $x$  = tid efter injektion.

$$T_{1/2} = \frac{\ln(2)}{\beta}$$

Ekvation 2.

## $fT_{>MIC}$

I beräkningarna användes följande MIC-värden: 30 ng/ml (betahemolyserande streptokocker), 125 ng/ml (*S. aureus*), och 1000 ng/ml (*A. equuli*).

$fT_{>MIC}$  togs fram genom användning av ekvation 1 som beskriver tidsförloppet av bensylpenicillin i plasma efter den sista injektionen.  $fC$  beräknades med en proteinbindningsgrad på 62,8% (Olsén *et al.*, 2013).

För beräkning av  $T_{>MIC}$  sattes  $y$  till respektive MIC-värde och tiden  $x$  då koncentrationen understeg detta MIC-värde räknades ut enligt ekvation 4. Den tid efter injektionen då  $fC$  ännu inte nått upp till MIC sattes till 0,25 h för samtliga hästar och MIC-värden, undantaget för MIC 1000 ng/ml hos två hästar där  $fC$  översteg MIC efter 1 h (häst 8) respektive 2 h (häst 3). Denna tid subtraherades från  $x$ .

$$x = \frac{\ln \frac{y}{a}}{\beta}$$

Ekvation 4.  $x$  = tid efter injektion,  $y$  = fri konc. vid tiden  $x$ ,  $a$  = teoretisk konc. vid tiden 0.

## Statistisk analys

Students t-test har använts för att jämföra  $C_{\min}$  efter den första dosen med medelvärdet för  $C_{\min}$  efter de följande sex doserna. Signifikansnivån har bestämts till 5% ( $P < 0,05$ ).

## RESULTAT

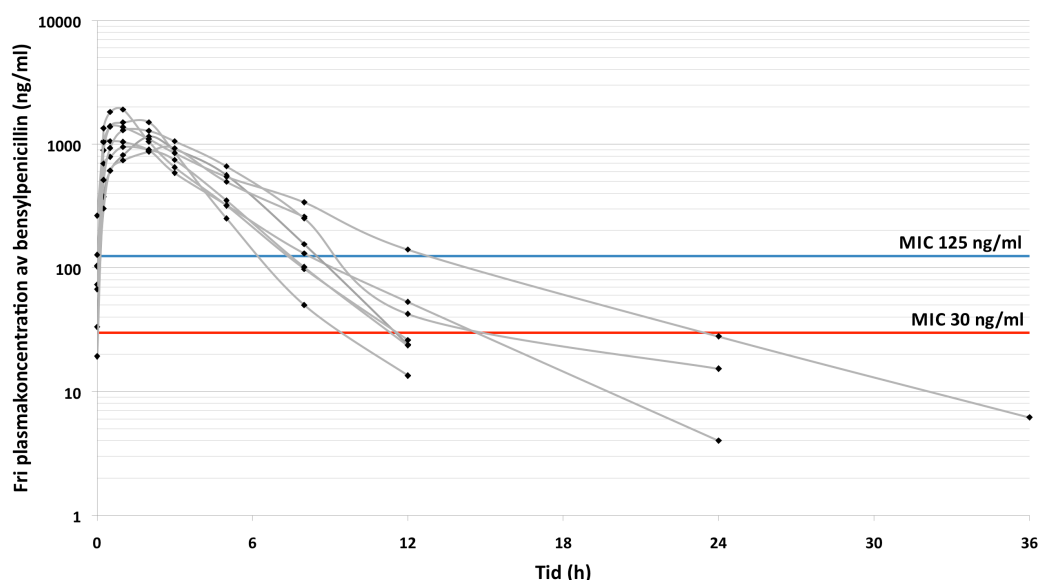
Behandlingen tolererades väl av samtliga hästar under försöket och inga biverkningar utöver lindrig till måttlig lokal svullnad och ömhet vid injektionsplatsen observerades. Inga påtagliga smärtreaktioner noterades hos hästarna i samband med injektionerna.



## Farmakokinetik

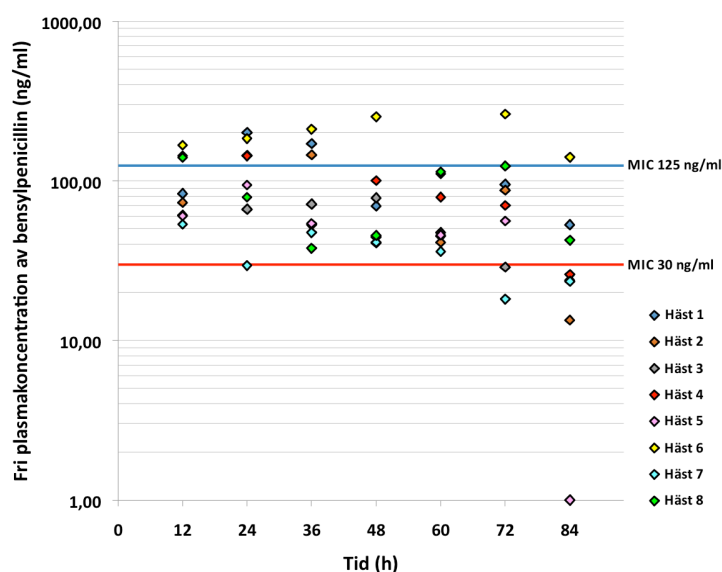
Tidsförloppet för den fria plasmakoncentrationen av bentsylpenicillin efter sista injektionen visas i figur 2. Farmakokinetiska parametrar presenteras i tabell 2. Medelvärden för  $T_{1/2}$  var  $2,6 \pm 1,0$  h,  $C_{\max}$   $3393 \pm 817$  ng/ml och  $T_{\max}$   $1,3 \pm 0,9$  h.

Vid beräkningen av halveringstiden erhöles en god korrelation mellan mätvärden och trendlinjer ( $R^2 = 0,98 \pm 0,03$ ).



Figur 2. Tidsförloppet för den fria plasmakoncentrationen av bentsylpenicillin hos de 8 hästarna efter den sista injektionen. Blå linje representerar MIC 125 ng/ml och röd linje MIC 30 ng/ml.

$C_{\min}$  var i medelvärde  $98 \pm 45$  ng/ml 12 h efter den första injektionen och  $83 \pm 62$  ng/ml 12 h efter följande injektioner (figur 3). Det fanns ingen signifikant skillnad mellan  $C_{\min}$  efter den första injektionen och  $C_{\min}$  efter de övriga injektionerna ( $P = 0,43$ ).



Figur 3. Lägsta fria plasmakoncentrationen ( $fC_{\min}$ ) i slutet av varje doseringsintervall (12h), relaterat till MIC 125 ng/ml (blå linje) respektive 30 ng/ml (röd linje). Den första injektionen gavs vid 0 h och den sista vid 72 h.

Tabell 2. Farmakokinetiska parametrar efter i.m. injektion av bensylpenicillin med tillsats av lidokain med adrenalin till åtta hästar.  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  och  $T_{1/2}$  uppmättes efter sista injektionen.  $C_{min}$  mättes 12 h efter varje injektion och visas som  $C_{minF}$  efter första injektionen och  $C_{minM}$  i form av medelvärdet för varje häst efter de efterföljande injektionerna (6 prover/häst)

Häst	$C_{max}$ (ng/ml)	$C_{minF}$ (ng/ml)	$C_{minM}$ (ng/ml)	$T_{max}$ (h)	$T_{1/2}$ (h)
H1	2846	83	106	0,5	2,9
H2	4045	73	79	2,0	1,5
H3	3106	61	53	2,0	1,8
H4	5132	144	79	0,5	1,9
H5	2498	60	49	3,0	2,8
H6	3720	167	193	0,5	4,6
H7	2555	53	33	1,0	1,9
H8	3486	140	77	1,0	3,3
<b>Medel</b>	<b>3423</b>	<b>98</b>	<b>83</b>	<b>1,3</b>	<b>2,6</b>
$\pm$ SD	882	45	62	0,9	1,0

$C_{max}$  = maximal plasmakoncentration

$C_{minF}$  = plasmakoncentration 12 h efter första injektionen

$C_{minM}$  = medelvärde för plasmakoncentrationen 12 h efter varje injektion förutom den första

$T_{max}$  = maximal plasmakoncentration

$T_{1/2}$  = halveringstid

## PK/PD

Tiden då den fria plasmakoncentrationen översteg respektive MIC under doseringsintervallet om 12 timmar beräknades efter den sista injektionen och visas i tabell 3. MIC-värdena presenteras även i relation till tidsförloppet för plasmakoncentrationen i figur 2 och figur 3.

$fT_{>MIC}$  för MIC 30 ng/ml var  $124 \pm 42\%$ . Hälften av hästarna uppnådde  $fC > 30$  ng/ml under minst 100% av doseringsintervallet och de resterande hästarna under minst 80% av doseringsintervallet.  $fT_{>MIC}$  för MIC 125 ng/ml var  $79 \pm 24\%$ , samtliga hästar uppnådde denna koncentration över minst 50% av doseringsintervallet. För MIC 1000 ng/ml var  $fT_{>MIC}$   $8 \pm 6\%$ . Två av de åtta hästarna nådde inte upp till  $fC > 1000$  ng/ml under någon del av doseringsintervallet.

Tabell 3. Andelen av tiden mellan doseringsintervallen (12h) då den fria plasmakoncentrationen överstiger respektive MIC-värde

Häst	$fT_{>MIC}$ (%)		
	30 ng/ml	125 ng/ml	1000 ng/ml
H1	125	75	3
H2	81	56	17
H3	97	66	7
H4	96	62	14
H5	136	88	0
H6	206	127	12
H7	94	62	0
H8	154	98	8
<b>Medel</b>	<b>124</b>	<b>79</b>	<b>8</b>
$\pm$ SD	42	24	6

## DISKUSSION

I denna studie undersöktes tidsprofilen för plasmakoncentrationen av bensylpenicillin efter i.m. giva tillsammans med lidokain och adrenalin. Resultaten visar på att behandlingen ger en god teoretisk effekt mot vanliga infektioner hos häst representerade av betahemolyserande streptokocker och *Staphylococcus aureus*. Det finns inga tidigare studier av denna läkemedelskombination hos häst. För human användning är kombinationen utvärderad, och i produktresumén för ett preparat med na-pc anges beredning med lidokainlösning som ett alternativ vid i.m. administration för att minska smärtan vid injektionen (Läkemedelsindustriföreningen, 2015).

Målet vid behandling med ett tidsberoende antibiotika är att bibehålla en tillräcklig plasmakoncentration under en tillräckligt lång tid efter administrationen. Den korta halveringstiden hos bensylpenicillin har gjort att olika metoder för att fördröja upptaget har prövats, och en tillsats av prokain har visat sig vara mycket effektivt ur denna aspekt. För en beredning utan prokain krävs tätare dosering för att kompensera för det snabbare upptaget. I detta försök har en tillsats av adrenalin gjorts med antagandet att den lokala vasokonstriktionen i injektionsområdet skulle kunna bromsa upptagshastigheten även av bensylpenicillin, eftersom adrenalin förlänger upptaget och därmed durationen av lokalanestesimedel (Rang *et al.*, 2012).

Administration av enbart na-pc i.m. har undersökts av Olsén *et al.* (2013) under snarlika förhållanden som under denna studie. Dosen bensylpenicillin var då högre än i detta försök, 15 mg/kg respektive 7,5 mg/kg. Resultaten från denna studie har jämförts med de för pc-na (tabell 4). Genomgående ses en större standardavvikelsen i denna studie, vilket gör att resultaten måste jämföras med försiktighet.

Tabell 4.  $T_{1/2}$ ,  $T_{max}$  och  $fT_{>MIC}$  ur detta försök (pc-lido) och från Olsén et al. 2013 (pc-na)

Parameter		Pc-lido		Pc-na *	
		$\pm$ SD		$\pm$ SD	
$T_{1/2}$ **	<i>h</i>	2,6	1,0	2,0	0,3
$T_{max}$ **	<i>h</i>	1,3	0,9	0,3	0,1
$fT_{>MIC}$ 125 ng/ml	%	79	24	63	12

\* Åtta hästar gavs pc-na, 15 mg/kg i.m. två gånger dagligen, sju gånger. En häst utgick på grund av kraftiga smärtreaktioner efter den femte injektionen.

\*\* Värden beräknade efter sista (sjunde) injektionen.

Den största skillnaden mellan resultaten ses för  $T_{max}$  som var drygt 4 gånger längre för pc-lido, vilket tyder på ett långsammare upptag av läkemedelskombinationen innehållande lidokain med adrenalin. Detta skulle delvis kunna förklaras av tillsatsen av adrenalin som genom vasokonstriktion i injektionsområdet kan ge minskad blodgenomströmning och därmed ett långsammare upptag. Vid injektion av pc-na visade hästarna också mycket smärtreaktioner, bland annat i form av huvudskakningar. Rörelse ökar blodtillförseln till muskulaturen och kan ge ett snabbare upptag av i.m. administrerade läkemedel (Schmidt & Roholt, 1966; Andersen & Saltin, 1985). Avsaknaden av denna typ av smärtreaktioner efter giva av pc-lido skulle därför kunna bidra till skillnaden i upptagshastighet.

De större variationerna i detta försök skulle dels kunna bero på individuella skillnader hos hästarna och på olikheter i utförande och beräkningar. Även tillsatsen av adrenalin kan ha medverkat till att öka variationen i upptagshastighet om graden och durationen av lokal vasokonstriktion varierade mellan hästarna.

Ingen signifikant skillnad kunde ses mellan  $C_{min}$  efter den första injektionen och  $C_{min}$  efter de följande injektionerna vilket tyder på att de värden som beräknades efter den sista injektionen bör gälla även i början av behandlingen. Detta innebär att behandlingen inte behöver inledas med en högre startdos.

Trots att dosen av pc-lido var halverad jämfört med pc-na sågs ingen minskning av  $fT_{>MIC}$  för MIC 125 ng/ml. Detta kan dels förklaras av det långsammare upptaget och den något längre halveringstiden för pc-lido. En annan bidragande orsak är att en ökning av dosen har en relativt liten inverkan på  $T_{>MIC}$ . Som en tumregel gör en fördubbling av dosen att  $T_{>MIC}$  förlängs med en halveringstid medan en halvering av doseringsintervallet ger en fördubbling av  $T_{>MIC}$ . Vid en ökad dos ses framför allt en ökning av  $C_{max}$ , men för ett tidsberoende antibiotika som penicillin ger en ytterligare höjning av den fria plasmakoncentrationen över MIC inte bättre effekt. Tätare doseringsintervall är därmed den bästa metoden för att förbättra ett tidsberoende läkemedels effekt, men detta kan behöva vägas mot att djuret inte skall behöva utsättas för fler injektioner än nödvändigt och att behandlingen skall vara praktiskt genomförbar för djurägaren.

Det finns ingen tydlig konsensus i litteraturen för vilket värde på  $fT_{>MIC}$  som bör eftersträvas för optimal dosering av antibiotika. Det är visat att  $fT_{>MIC}$  under minst 30-50% av doseringsintervallet ger goda kliniska resultat (Drusano, 2004; MacGowan, 2011; Martinez *et*

al., 2013). Även Läkemedelsverket (2015) rekommenderar i sin doseringsrekommendation att  $fC$  bör överstiga MIC under minst 50% av doseringsintervallet vid behandling med penicillin. Vid bestämning av doseringsregim eftersträvas inte enbart att uppnå goda kliniska resultat, utan även att minska resistensutveckling och minimera risken för biverkningar. Exponering för antibiotika i suboptimala koncentrationer är en känd riskfaktor för utveckling av resistens (Washington, 1979), och lägre  $T_{>MIC}$  leder oundvikligen till att bakterier utsätts för låga antibiotikakoncentrationer under en längre tid. Det är möjligt att minimering av resistensutveckling ses då  $fT_{>MIC}$  är högre än de nivåer som ger goda kliniska resultat, men i dagsläget finns inget enhetligt stöd för detta i den vetenskapliga litteraturen. Penicillin är ett atoxiskt läkemedel som tolereras väl även i högre doser än de som använts i detta försök, så om ett högre  $T_{>MIC}$  skulle kunna leda till en minskad resistensutveckling finns det utrymme att minska doseringsintervallet och/eller höja dosen.

Den doseringsregim som användes under försöket gav tillfredställande resultat med  $fT_{>MIC} > 50\%$  hos samtliga hästar för MIC-värden 30 ng/ml (betahemolyserande streptokocker) respektive 125 ng/ml (*S. aureus*). För de betahemolyserande streptokockerna valdes MIC-värdet 30 ng/ml trots att en del av de presenterade källorna angav högre MIC (se tabell 1). I underlaget från Greko (2015), som baseras på kliniska isolat från svenska hästar och därmed bedöms ha hög relevans, sågs enbart ett isolat med MIC  $> 30$  ng/ml, motsvarande 0,3% av proverna.

För MIC 1000 ng/ml (*Actinobacillus equuli*) ses allt för låga plasmakoncentrationer för god effekt. Två av åtta hästar hade  $fC_{max}$  lägre än 1000 ng/ml och  $fT_{>MIC}$  ligger långt under 50%. För behandling av infektioner orsakade av *Actinobacillus equuli* kan därför doseringen i detta försök inte rekommenderas. Vid infektioner där *Actinobacillus equuli* konstaterats eller misstänks är i.m. penicillinbehandling inte att rekommendera, i dessa fall bör i stället i.v. behandling med kortare doseringsintervall användas (Läkemedelsverket, 2015).

En stor andel av de hästar som drabbas av centralnervösa symptom efter injektion av pc-prok har troligen fått dessa biverkningar till följd av prokaintoxicitet. Det finns forskning som tyder på att hästar som har en lägre aktivitet hos de esteraser som bryter ned prokain kan ha en högre risk att drabbas av dessa biverkningar (Olsén *et al.*, 2007). Pc-lido bör därmed vara ett säkrare preparat än pc-prok vid behov av framtida penicillinbehandling av en häst som drabbats av denna typ av reaktioner. Den andel av hästarna som fått biverkningar på grund av en allergisk reaktion mot penicillin bör däremot inte behandlas med pc-lido. En allergisk reaktion är sannolik om hästen fått biverkningar efter giva av penicillin utan prokain och/eller visat symptom som tyder på anafylaxi, till exempel urtikaria eller dyspné.

Tillsatsen av lidokain och adrenalin skulle i sig kunna ge upphov till biverkningar, bägge substanserna kan ge kardiovaskulär påverkan med förändringar i hjärtfrekvens och rytmrubbningar. Vid spädning av penicillinet enligt det beskrivna schemat tillförs hästen 0,125 mg/kg lidokain och 0,06 µg/kg adrenalin per doseringstillfälle, vilket för en häst med vikten 600 kg motsvarar 75 mg lidokain och 36 µg adrenalin. Det är betydligt lägre än den maximala angivna dosen vid lokalanestesi som är 3 g lidokain och 1,5 mg adrenalin (Läkemedelsindustriföreningen, 2014). Risken för biverkningar på grund av tillsatsen av lidokain och adrenalin bedömdes därför som liten.

Användningen av pc-lido har samma indikationer som för pc-prok. Den största fördelen med pc-lido bör vara att risken för biverkningar på grund av prokaintoxicitet elimineras. Penicillin har liten påverkan på tarmens gramnegativa normalflora och ger jämfört med många andra antibiotika en förhållandevis låg risk för resistensutveckling. Det är därför önskvärt att penicillin väljs framför andra antibiotika i de fall det är möjligt. Rädsla för biverkningar associerade med pc-prok kan dock göra att bensylpenicillin väljs bort av veterinärer eller djurägare. Om ett prokainfritt penicillinpreparat kunde bidra till att minska användningen av andra typer av antibiotika skulle det därför kunna vara positivt ur resistenssynpunkt. Det allra viktigaste för att bromsa resistensutvecklingen är dock självklart en totalt sett minskad antibiotikaanvändning.

Karenstiden för tävling är 14 dagar för pc-prok medan bensylpenicillin och lidokain med adrenalin var för sig har 96 timmars karenstid (bilaga 2, Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd [SJVFS 2010:45] om träning och tävling med djur, senast ändrad genom SJVFS 2013:43, saknr L 17). Karenstiden ska dock inte vara vägledande vid val av antibiotikasubstans.

För praktisk användbarhet av en beredning med lidokain krävs det att den kan administreras av djurägaren. I detta försök bereddades läkemedlet inför varje doseringstillfälle. Det är av flera skäl olämpligt att djurägaren skall utföra beredningen av ett läkemedel på detta sätt. Det finns en risk att läkemedlet blandas till felaktiga koncentrationer med över- eller underdosering som följd och brister i aseptiken kan orsaka infektioner och nedbrytning av penicillinet genom kontamination av penicillinasbildande bakterier. Den ökade hanteringen av penicillininnehållande preparat som beredningen innebär ökar också risken för att människor exponeras för penicillin vilket kan leda till överkänslighet mot substansen. Om bensylpenicillin i denna läkemedelskombination ska användas frekvent utanför djursjukhus vore det fördelaktigt med en färdig beredningsform.

Provtagning för utvärdering av penicillinets stabilitet i lösningen med lidokain och adrenalin utfördes i samband med denna studie, men resultaten har ännu inte analyserats. Om den färdigberedda lösningen kan förvaras skulle det underlätta den praktiska användningen. Undersökning av lösningens stabilitet är även en förutsättning för utvecklingen av en eventuell framtida färdig beredningsform innehållande lidokain och adrenalin.

Behandlingen tolererades väl av hästarna under försöket och de enda biverkningar som noterades var lindrig till måttlig lokal svullnad och ömhet vid injektionsplatsen. I samband med försöket utfördes beteendeobservationer för utvärdering av smärteaktioner. Hästarna observerades under 6 minuter före och efter varje injektion och deras beteende noterades. Data från denna del av försöket har ännu inte analyserats. De personer som utförde injektionerna och beteendeobservationerna upplevde dock inte att några uppenbara smärteaktioner kunde ses varken när hästarna injicerades med pc-lido eller med pc-prok, vilket tyder på en förbättring jämfört med pc-na där smärteaktionerna hos flera hästar var mycket tydliga (Olsén *et al.*, 2013).

## KONKLUSION

Med den i undersökningen använda läkemedelskombinationen och doseringen 7,5 mg/kg två gånger dagligen uppnås plasmakoncentrationer av bensylpenicillin som ger en teoretiskt god effekt mot vanliga infektioner hos häst representerade av betahemolyserande streptokocker och *Staphylococcus aureus*. För utvärdering av beredningens kliniska användbarhet behöver även smärreaktioner och lösningens stabilitet studeras.

## **TACK**

Ett stort tack till mina handledare Lena Olsén och Carina Ingvast-Larsson för ert engagemang under arbetets gång.

Tack till stallpersonalen på OG för gott samarbete under projektet.

Många tack till Ulf Bondesson med personal på SVA som utförde analyserna.

Tack även till Christina Greko, Märit Pringle och Karin Bergström på SVA för bidrag med MIC-värden.

Studien har finansierats genom Stiftelsen Hästforskning.

Och till sist - det största av tack till våra fantastiska försökshästar.



## REFERENSER

- Amir, J., Ginat, S., Cohen, Y. H., Marcus, T. E., Keller, N. & Varsano, I. (1998). Lidocaine as a diluent for administration of benzathine penicillin G. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 17:890-893.
- Andersen, P. & Saltin, B. (1985). Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *The Journal of Physiology*, 366:233-249
- Baggot, J. D., Love, D. N., Love, R. J., Raus, J. & Rose, R. J. (1990). Oral dosage of penicillin V in adult horses and foals. *Equine Veterinary Journal*, 22:290-292.
- Benedict, R. G., Schmidt, W. H., Coghill, R. D. & Oleson, A. P. (1944). Penicillin. III. The stability of penicillin in aqueous solution. *Journal of Bacteriology*, 49:85-95.
- Bremer, H. (2010). *Intramuscular administration of two dosage forms of benzylpenicillin in horse - pain assessment*. Sveriges Lantbruksuniversitet. Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap/Veterinärprogrammet (Examensarbete 2010:66)
- Burgess, D. S. (1999) Pharmacodynamic principles of antimicrobial therapy in the prevention of resistance. *Chest*, 115: 19S-23S.
- Cars, O. (1997). Efficacy of beta-lactam antibiotics: integration of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 27:29-33.
- Chapman, C. B., Courage, P., Nielsen, I. L., Sitaram, B. R. & Huntington, P. J. (1992). The role of procaine in adverse reactions to procain penicillin in horses. *Australian Veterinary Journal*, 69:129-133.
- Drusano, G. L. (2004). Antimicrobial pharmacodynamics: Critical interactions of 'bug and drug'. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 289-300.
- Ducharme, N. G., Dill, S. G., Shin, S. J., Schwark, W. S., Ducharme, G. R. & Beilman, W. W. (1983). Phenoxymethyl penicillin in the horse: an alternative to parenteral administration of penicillin. *Canadian Journal of Comperative Medicine*, 47:436-439.
- Dürr, A. (1976). Comparison of the pharmacokinetics of penicillin G and ampicillin in the horse. *Research in Veterinary Science*, 20:24-29.
- Ensink, J. M., van Klingeren, B., Houwers, D. J., Klein, W. R. & Vulto, A. G. (1993). In-vitro susceptibility to antibacterial drugs of bacterial isolates from horses in the Netherlands. *Equine Veterinary Journal*, 25:309-313.
- Firth, E. C., Nouws, J. F. M., Driessens, F., Schmaetz, P., Peperkamp, K. & Klein, W. R. (1986). Effect of the injection site on the pharmacokinetics of procaine penicillin G in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 47:2380-2384.
- Firth, E. C., Nouws, J. F. M., Klein, W. R. & Driessens, F. (1990). The effect of phenylbutazone on the plasma disposition of penicillin G in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 13:179-185.
- Fleming, A. (1929). On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *British Journal of Experimental Pathology*, 10:226-236.
- Folkhälsomyndigheten & Statens veterinärmedicinska anstalt. (2014). *SVEDRES-SVARM 2014. Consumption of antibiotics and occurrence of antibiotic resistance in Sweden*. Solna/Uppsala. (ISSN 1650-6332).
- Franklin, A., Horn af Rantzien, M. & Rydén, L. (1989). Prokain-penicillin G och kalium-penicillin G i plasma och synovia hos häst. *Svensk Veterinärtidning*, 41:27-41.
- Giguère, S., Prescott, J. F. & Dowling, P. M. (ed.) (2013). *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 5 ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Harari, M., Mathias, A. & Sembo, J. (1988). A comparison of pain induced by procaine and benzyl penicillin. *Papua New Guinea Medical Journal*, 31:169-171.

- Horspool, L. J. I. & McKellar, Q. A. (1995). Disposition of penicillin G sodium following intravenous and oral administration to equidae. *British Veterinary Journal*, 151:401-412.
- Kaplan, M. I., Lee, J. A., Hovda, L. R. & Brutlag, A. (2011). Adverse effects associated with inadvertent intravenous penicillin G procaine-penicillin G benzathine administration in two dogs and a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238:507-510.
- Keen, P. M. (1965). The binding of three penicillins in the plasma of several mammalian species as studied by ultrafiltration at body temperature. *British Journal of Pharmacology*, 25:507-514.
- Kheiriloom, A., Kazemi-Vaysari, A., Ardjmand, M. & Baradar-Khoshfetrat, A. (1999). The combined effects of pH and temperature on penicillin G decomposition and its stability modeling. *Process Biochemistry*, 35:205-211.
- Lindberg, J. (2009). *En farmakologisk pilotstudie av olika beredningar av bensylpenicillin intramuskulärt till häst*. Sveriges Lantbruksuniversitet. Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap/Veterinärprogrammet (Examensarbete 2009:22)
- Love, D. N., Rose, R. J., Martin, C. A. & Bailey, M. (1983). Serum concentrations of penicillin in the horse after administration of a variety of penicillin preparations. *Equine Veterinary Journal*, 15:43-48.
- Läkemedelsindustriföreningen (2014-06-16). *Produktresumé Xylocain® adrenalin*. <http://www.fass.se/LIF/product?8&userType=1&nplId=19681025000046&docType=14> [2015-12-08]
- Läkemedelsindustriföreningen (2015-02-23). *Produktresumé Bensylpenicillin Panpharma*. <http://www.fass.se/LIF/product?4&userType=2&nplId=20011005000166&docType=6> [2015-12-08]
- Läkemedelsverket. (2015). *Dosering av antibiotika till häst - behandlingsrekommendation*. Information från Läkemedelsverket, supplement, årgång 26. Uppsala: Läkemedelsverket.
- MacGowan, A. (2011). Revisiting beta-lactams - PK/PD improves dosing of old antibiotics. *Current Opinion in Pharmacology*, 11:470-476.
- Martinez M., Toutain P. L. & Turnridge J. (2013). *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine: The pharmacodynamics of antimicrobial agents*. Ames, Iowa; John Wiley & Sons, Inc, 2013;79–103.
- McKellar, Q. A. & Horspool, L. J. I. (1995). Stability of penicillin G, ampicillin, amikacin and oxytetracycline and their interactions with food in in vitro simulated equine gastrointestinal contents. *Research in Veterinary Science*, 58:227-231.
- Meyer, G. A., Lin, H. C., Hanson, R. R. & Hayes, T. L. (2001). Effects of intravenous lidocaine overdose on cardiac electrical activity and blood pressure in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 33:434-437.
- Michnik, A., Michalik, K & Marcoin, W. (2004). Influence of magnesium glutamate on stability of penicillin G aqueous solution. *International Journal of Pharmaceutics*, 273:149-158.
- Mouton, J. W., Dudley, M. N., Cars, O., Derendorf, H. & Drusano, G. L. (2005). Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55:731-738.
- Mouton, J. W., Theuretzbacher, U., Craig, W. A., Tulkens, P. M., Derendorf, H. & Cars, O. (2007). Tissue concentrations: do we ever learn? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61:235-237.
- Nielsen, I. L., Jacobs, K. A., Huntington, P. J., Chapman, C. B. & Lloyd, K. C. (1988). Adverse reactions to procaine penicillin G in horses. *Australian Veterinary Journal*, 65:181-185.
- Olsén, L., Invast-Larsson, C., Broström, H., Larsson, P. & Tjälve, H. (2007). Clinical sign and ethiology of adverse reactions to procain benzylpenicillin and sodium/potassium benzylpenicillin in horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30:201-207.

- Olsén, L., Bremer, H., Olofsson, K., Bröjer, J., Bondesson, U., Bergh, A., Nostell, K., Broström, H., Bengtsson, B. & Ingvast-Larsson, C. (2013). Intramuscular administration of sodium benzylpenicillin in horses as an alternative to procaine benzylpenicillin. *Research in veterinary science*, 95:212-218.
- Patel, I. H., Weinfeld, R. E., Konikoff, J. & Parsonnet, M. (1982). Pharmacokinetics and tolerance of ceftriaxone in humans after single-dose intramuscular administration in water and lidocaine diluents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 21:957-962.
- Powers, T. E., Varma, K. J. & Powers, J. D. (1984). Selecting therapeutic concentrations: minimum inhibitory concentrations vs subminimum or supraminimum inhibitory concentrations. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185:1062-1067.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J. & Henderson, G. (2012). *Rang and Dale's pharmacology*. 7. ed. London: Elsevier Churchill Livingstone.
- Schmidt, H. & Roholt, K. (1966). Penicillin serum concentrations in relation to exercise. *Acta Pathologica et Microbiologia Scandinavica*, 68:396-400
- Schwark, W. S., Ducharme, N. G., Shin, S. J., Beilman, W. T. & Elwell, J. T. (1983). Absorption and distribution patterns of oral phenoxymethyl penicillin (penicillin V) in the horse. *The Cornell Veterinary Journal*, 73:314-322.
- Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd [SJVFS 2010:45] om träning och tävling med djur, senast ändrad genom SJVFS 2013:43, saknr L 17
- Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap. (2013). *Riktlinjer för användning av antibiotika inom hästsjukvård*.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2015-01-01). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters*. Version 5.0, 2015. [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints) [2015-10-19]
- Thomas, J. K., Forrest, A., Bhavnani, S. M., Hyatt, J. M., Cheng, A., Ballow, C. H. & Schentag, J. J. (1998). Pharmacodynamic evaluation of factors associated with the development of bacterial resistance in acutely ill patients during therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42:521-527.
- Tjälve, H. (1997). Adverse reactions to veterinary drugs reported in Sweden during 1991-1995. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20:105-110.
- Tobin, T., Blake, J. W., Sturma, L., Arnett, S. & Truelove, J. (1977). The pharmacology of procaine in the horse: pharmacokinetics and behavioural effects. *American Journal of Veterinary Research*, 38: 637-647.
- Toutain, P. L., del Castillo, J. R. E. & Bousquei-Mélou, A. (2002). The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science*, 73:105-114.
- Uboh, C. E., Soma, L. R., Luo, Y., McNamara, E., Fennell, M. A., May, L., Teleis, D. C., Rudy, J. A. & Watson, A. O. (2000). Pharmacokinetics of penicillin G procaine versus penicillin G potassium and procaine hydrochloride in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 61:811-815.
- Washington II, J. A. (1979). The effect and significance of subminimal inhibitory concentrations of antibiotics. *Reviews of Infectious Diseases*, 1:781-786.
- Waxman, S. J., KuKanich, B., Milligan, M., Beard, W. L. & Davis, E. G. (2011). Pharmacokinetics of concurrently administered intravenous lidocaine and flunixin in healthy horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 35:413-416.
- Wiese, B. (1989). *Bioanalysis of benzylpenicillin: determinations of low drug concentrations in milk, plasma and lymph by digital subtraction chromatography – a new technique to reduce disturbances from interfering substances*. Diss. Uppsala: Sveriges Lantbruksuniversitet.